

ющие лица — контактные, в связи с этим, прошли обследование на наличие маркеров гепатита по приглашению поликлиники. Возраст 238 пациентов находился в пределах от 12 до 86 лет (распределение отличалось от нормального, межквартильный размах 25/75 составил от 30 до 51 года, медиана — 37 лет). В этих очагах было обследовано 375 контактных лиц. Возраст контактных лиц находился в пределах от 1 до 84 лет (распределение отличалось от нормального, межквартильный размах 25/75 составил от 30 до 54 лет, медиана — 40 лет).

Частота инфицирования контактных лиц в очагах всех нозоформ гепатита В находилась в пределах  $27,73 \pm 2,31$  на 100 обследованных. Частота инфицирования контактных лиц их групп «супруги» и «другие члены семьи» статистически не отличалась, составляя соответственно  $24,14 \pm 3,57$  и  $30,0 \pm 3,03$ . Таким образом, половой путь инфицирования в семьях гепатита В не является первостепенным. В полной мере в очагах гепатита В реализуется контактно-бытовой прямой и не прямой пути передачи инфекции. По отдельным подгруппам по степени родства частота инфицированности среди контактных лиц распределилась следующим образом: сестры —  $53,85 \pm 13,83$ ; дети: дочь —  $43,18 \pm 7,47$ , сын —  $42,86 \pm 9,35$ ; внуки —  $42,86 \pm 18,7$ ; братья —  $28,57 \pm 12,07$ ; супруги: муж —  $26,67 \pm 5,71$ , жена —  $22,35 \pm 4,52$ ; родители: мать —  $21,31 \pm 5,24$ , отец —  $20,69 \pm 7,52$ ; суммарно другие члены семьи (родители жены, мужа, племянники, свояки и прочие) —  $14,71 \pm 6,07$ . Наиболее чаще в очагах источниками инфекции становились матери — 23,08% от всех выявленных источников инфекции, мужья — 18,27%, жны — 15,38%, сыновья — 11,54%, братья — 8,65%, отец — 6,73%, бабушка — 2,88%, сстры — 1,92%. Выявлены единичные источники инфекции среди прочих родственных контактов.

Среди инфицированных контактных лиц выявляется высокий удельный вес контактных лиц, у которых выявленные маркеры свидетельствуют о ранее перенесенной скрытой HBV-инфекции ( $\text{antiHBs} + \text{antiHBcor}_{\text{total}}$ ), доля этой группы лиц в нашем исследовании составила 43,3% от всех инфицированных. Хроническое и бессимптомное течение HBV-инфекции выявлено у 51,9% от всех инфицированных контактных лиц. На долю острой манифестация гепатита В пришлось только 4,8% случаев.

Удельный вес очагов, в которых все контактные лица здоровы, составил 62,6%, очагов, в которых выявлены инфицированные контактные лица, — 37,3%. В очагах острого гепатита преимущественно выявлялись здоровые контактные лица (88,9% очагов), в очагах хронических и бессимптомных форм инфекции в каждом 3 очаге выявлялись среди контактных лиц инфицированные. Данная ситуация в первую очередь обусловлена длительностью контакта с больным в очаге и наличием или отсутствием изоляции источника инфекции, а также длительностью периода вирусемии. В очагах хронической и бессимптомной инфекции в силу длительного течения заболевания постепенно снижается осторожность контактных лиц в отношении повседневного и систематического выполнения комплекса профилактических мероприятий. В то же время в очагах острой инфекции источники инфекции чаще всего госпитализируются в максимальный период заразительности.

Объекты внешней среды обитания — значимый фактора передачи гепатита В в очагах совместного проживания. Вероятность инфицирования повышается при совместном использовании следующих предметов личной гигиены: зубных щеток — в 5,3 раза, полотенца — в 4,9 раза, бритв — в 4,1 раза, мочалок — в 4,1 раза. При незащищенном половом контакте с больным супругом относительный риск инфицирования увеличивается в 25,4 раза.

В результате изучения напряженности иммунитета к HBV защитные титры антител выявлены у  $85,71 \pm 2,7\%$  привитых контактных лиц.

С целью унифицирования порядка проведения профилактической и противоэпидемической работы в очагах, на территории города внедрено проведение ежемесячного мониторинга показателей, отражающих результативность организации профилактической работы в очагах гепатита В и микст-инфекции:

- охват обследованием контактных лиц (критерий охвата — не менее 95% от подлежащих);
- охват вакцинацией против ВГВ (критерий охвата — не менее 95% от подлежащих);
- удельный вес и динамика отказов от обследования и вакцинации;
- удельный вес и динамика неявок контактных лиц на обследование и вакцинацию.

Вероятность инфицирования в семьях с низкой санитарной культурой достаточно высока и требует проведения в очагах не только вакцинации, но и работы, направленной на повышение грамотности пациентов и членов их семей по формированию навыков соблюдения правил личной гигиены.

#### Литература

1. Нечаев, В.В. Социально-значимые инфекции: монография: в 2 ч. / В.В. Нечаев, А.К. Иванов, А.М. Пантелеев. — СПб.: Береста, 2011. — Ч. 1: Моноинфекции. — 440 с.
2. Шляхтенко Л.И. Системный подход к изучению эпидемиологического процесса гепатитов В и С: прогноз и принципы профилактики // Мир вирусных гепатитов. — 2003. — №8. — С.11–12.

#### ОПТИМИЗАЦИЯ СОСТАВА ФЕРМЕНТАТИВНОЙ СОСТАВЛЯЮЩЕЙ (ФЕРМЕНТНЫЙ МИКСТ) МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ D-ЛАКТАТА В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ

Семенов В.М., Веремей И.С.,  
Зенькова С.К., Семенов С.В.,  
Дмитраченко Т.И., Скворцова В.В.

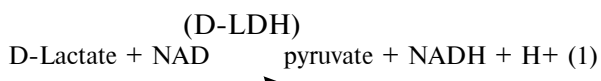
УО «Витебский государственный ордена  
Дружбы народов медицинский  
университет», г. Витебск, Беларусь

Лактат был открыт шведским химиком Схилом (Scheele) еще в 1870 году, который выделил его из кислого молока. Лактат — самая простая гидроксикарбоновая кислота, существующая в виде двух оптических изомеров из-за его ассиметричного C2 атома: D- (правовращающего) и L- (левовращающего)

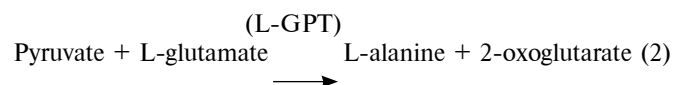
изомеров. В настоящее время D-лактат как критерий бактериальной этиологии процесса уже широко используется в терапии, хирургии, неврологии, урологии и других областях медицинской практики. Так, при уровне D-лактата в СМЖ, превышающей 6,26 мг/л, менингит можно с 93% вероятностью отнести к бактериальному, при уровне D-лактата более 0,15 mM в асцитической, синовиальной, плевральной жидкостях можно с 99,5% вероятностью говорить о локальном бактериальном воспалении и т.д. Кроме того, оценка уровня D-лактата в динамике является хорошим критерием эффективности проводимой антибактериальной терапии.

Для определения концентрации D-лактата в биологических жидкостях чаще всего используют энзиматический метод в формате конечной точки. Подробно описаны варианты определения с депротеинизацией биоматериала и без. Основной принцип основан на ферментативном превращении D-лактата в пируват с помощью D-лактатдегидрогеназы и спектрофотометрическом определении стехиометрически выделившегося NADH:

Поскольку реакция обратима, пируват выводят из системы реакцией переаминирования с помощью GPT:



Поскольку реакция обратима, пируват выводят из системы реакцией переаминирования с помощью GPT:



Данная химико-аналитическая стратегия реализована в коммерческих наборах таких крупных мировых корпораций как Roche и др. Однако данный метод имеет ряд существенных ограничений. Молярный показатель поглощения аналитической мишени невысокий (6300), что в значительной степени сказывается на чувствительности методики и, соответственно, снижает вариабельность пробоподготовки. Определение проводится в ближней ультрафиолетовой области (при 340 нм) что затрудняет перевод методики на планшетный ридер, поскольку пластик полистирольного иммунологического планшета тоже поглощает в этом диапазоне. Более того, далеко не каждый иммуноферментный анализатор имеет светофильтр 340 нм. Спектры поглощения NADH и NAD перекрываются, что в свою очередь вносит значительный элемент неопределенности в методику.

Поэтому производители наборов и сторонники этого метода достаточно виртуозно трактуют предел обнаружения как концентрацию D-лактата при изменении оптической плотности на 0,005 или 0,010 единиц (Magazyme) или же указывают его только в конечном анализируемом объеме [2]. Кроме того, практически никто не рассматривает влияние матрицы, хотя всем хорошо известно, что биологические жидкости достаточно интенсивно поглощают при 340 нм. Таким образом, метод применим при определении высоких концентрации D-лактата в образце (более 0,5–0,8 ммоль/л) и требует значи-

тельного объема пробы (более 1 мл).

Практически всех описанных выше недостатков удалось избежать при использовании дополнительного аналитического шунта, основанного на переходе солей тетразолия в соответствующие формазаны. Данные хромогены уже давно используются в гистохимии и цитологии и имеют великолепные спектральные характеристики в видимом (!) оптическом диапазоне. Использование этой техники привело к лавинообразному росту коммерческих продуктов в последние годы. Производителям, наконец, удалось перевести метод на планшетный ридер и повысить чувствительность в несколько раз. В данный момент ассортимент используемых хромогенов очень разнообразен, что однозначно указывает на актуальность определения уровня D-лактата в биологических объектах, высокий уровень конкуренции на рынке *invitro* диагностикомов и существующую незавершенность дизайна тест-системы (отсутствует доминирующий рыночный бренд). Творческому коллективу кафедры инфекционных болезней УО ВГМУ удалось разработать химико-аналитический фундамент метода для количественного определения уровня D-лактата в биологических жидкостях. Таким образом, целью нашего исследования являлась оптимизация ферментативной составляющей данного метода.

Как уже было сказано выше, принцип действия ферментативного микста основан на превращении D-лактата в пируват с помощью D-лактатдегидрогеназы. Поскольку реакция обратима, пируват выводят из системы реакцией переаминирования с помощью GPT. Для полнофакторной модели нами выбраны три концентрации (объемные составляющие) для обоих ферментов (20, 40, 60 мкл). Как уже было указано выше, в состав буферной системы включен L-глутамин в большом избытке с целью смещения равновесие во второй реакции вправо и формирования кинетики псевдопервого порядка. Поскольку в данном опыте оптимизируется ферментативная составляющая, нами было принято решение включить еще один фактор в трех модальностях — время инкубации (30, 60, 90 минут соответственно). Дисперсионный анализ эксперимента показал, что в течение всего периода инкубации значимое влияние ( $p < 0,05$ ) на экспериментальную модель оказывал фактор D-LDH, что подчеркивает адекватность построения как самой модели, так и выбор модальностей. Однако если проследить динамику изменения Р-значения во времени, то можно заметить увеличение показателя для D-лактатдегидрогеназы, так и снижение последнего для GPT.

Этот факт несложно объяснить исходя из кинетических закономерностей, протекающих сопряженных реакций. В стартовый период происходит интенсивная конверсия D-лактата в пируват. В эту фазу доминирующее влияние оказывает D-LDH. По мере накопления пирувата «включается» вторая ферментативная система, которая переаминирует последний в аланин. Несмотря на низкие концентрации субстратов и, соответственно, невысокие скорости реакции использование дисперсионного анализа позволило зафиксировать это состояние, что весьма актуально для такого вида исследований, поскольку эмпирический подбор условий может

быть затратным и длительным.

Учитывая экономическую составляющую (ферменты являются самыми дорогими реагентами в этом методе), было принято решение о выборе средней модальности (точка «перелома») — 40 мкл маточного раствора D-LDH на 10 определений. Однако спустя непродолжительное время нами были проведены пилотные испытания маточного раствора D-LDH и того же раствора после повторного размораживания.

Было обнаружено значительное снижение абсолютного значения углового коэффициента, и, соответственно, чувствительности метода более чем в два раза. Подобные неожиданности с высокой долей вероятности могут проявиться и в процессе хранения будущей тест-системы. Таким образом, наиболее оптимальным составом энзимного микста является 60 мкл маточного раствора D-LDH на 10 определений и 40 мкл маточного раствора GPT на 10 определений (небольшой избыток).

Таким образом, нами оптимизировано количественное соотношение ферментативной составляющей для определения уровня D-лактата в биологических жидкостях.

#### Литература

1. D(-)Lactate measurement in cerebrospinal fluid for rapid diagnosis of bacterial meningitis / N. Eynard [et al] // *Biologie prospective. Comptes rendus du 8e Colloque de pont-a-Mousson* — 1993:139–42.
2. Determination of D-lactate by enzymatic methods in biological fluids: study of interferences / M. Ramon [et al.] // *Clinical Chemistry*. — 1997. — №43. — P. 1010–1015.
3. D-Lactic acid in synovial fluid. A rapid diagnostic test for bacterial synovitis / J. Gratacys [et al] // *J Rheumatol* — 1995; 22:1504–1508.
4. D-Lactic acid measurements in the diagnosis of bacterial infections / S.M. Smith [et al.] // *J Clin Microbiol* — 1989;27:385–388.
5. Ewaschuk, J.B. D-Lactate in Human and Ruminant Metabolism / J.B. Ewaschuk, J.M. Naylor, G.A. Zello // *Journal of Nutritional*. — 2005. — №3. — P. 1619–1625.
6. Семенов, В.М. Гнойные менингиты: особенности клинического течения, вариант дифференциальной диагностики / В.М. Семенов, С.К. Зенькова, Т.И. Дмитраченко // *Неотложная медицина №2. Медицинский алфавит*. — 2011. — №11. — С. 22–28.

#### РЕЙТИНГОВАЯ ОЦЕНКА ЗНАНИЙ СТУДЕНТОВ В СИСТЕМЕ МЕДИЦИНСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ

*Семенов В.М., Дмитраченко Т.И.,  
Зенькова С.К., Скворцова В.В., Жильцов И.В.*

*УО «Витебский государственный ордена  
Дружбы народов медицинский университет»,  
г. Витебск, Беларусь*

Рейтинговая система оценки успеваемости студентов — система интегральной оценки всех видов

учебной деятельности студентов по учебной дисциплине.

При внедрении рейтинговой системы оценки успеваемости студентов на кафедре инфекционных болезней оценивались следующие виды учебной деятельности: лекции, практические занятия, самостоятельная работа (аудиторная и внеаудиторная).

Введению рейтинга на кафедре инфекционных болезней предшествовала большая подготовительная работа по структурированию материала, определению объема и трудоемкости всех учебных поручений, разработке шкалы балльности и критериев оценки. При формировании рейтинговой системы было крайне важным методически точно оценить каждый вид учебной работы соответствующим числом баллов и установить рейтинг, соответствующий тому или иному уровню знаний.

Основными формами контроля на кафедре являлись: входной тестовый письменный контроль знаний по вопросам с мультимедийной презентации или бумажного носителя на каждом практическом занятии; устный опрос на практических занятиях; контроль знания на рубежных итоговых занятиях по каждому из модулей; компьютерный тестовый контроль перед экзаменом; экзаменационный контроль практических умений.

Оценка всех видов учебной работы проводилась по 10-балльной шкале в соответствии с критериями оценки знаний и компетенций студентов, разработанными Министерством образования Республики Беларусь, согласно утверждённому положению.

В текущий рейтинг включались: объем выполненных аудиторных часов лекций; объем выполненных аудиторных часов практических занятий; суммарная оценка подготовки к практическим занятиям (входное тестирование); суммарная оценка работы на практических занятиях (текущие оценки).

Модульный рейтинг представлял собой суммарную оценку за итоговые занятия по всем модулям.

Творческий рейтинг студента включал следующие виды его деятельности: регулярность внеаудиторной самостоятельной работы (дежурство в клинике); подготовка реферата по вопросам инфектологии и зачитывание его на занятии в группе; изготовление учебного пособия; изготовление учебной таблицы формата А1; подготовка мультимедийной презентации в программе PowerPoint по одной из лекционных тем, содержащей не менее 50 слайдов, 30 изображений и 5 страниц текста; участие в заседаниях СНО кафедры; выступление на заседаниях СНО кафедры с реферативным докладом, с докладом по результатам собственного исследования; выступление с докладом на конференции с последующей его публикацией в виде тезисов или статьи в сборнике; оформление работы на Республиканский смотр-конкурс студенческих научных работ.

Рубежный рейтинг определялся в конце обучения на последнем практическом занятии и включал сумму баллов текущего рейтинга, модульного рейтинга, творческого рейтинга + балл экзаменационного тестирования.

За пропущенное учебное занятие студент не получал баллы. Для студентов с целью дисциплинарного воздействия кафедра вводила понижающий коэффициент за опоздание на занятие (лекцию).

Рейтинг дисциплины (Р) рассчитывался как